Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel
(Vorsteher: Prof. R. Doerr).

Analyse des Präzipitationsphänomens mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion unter Berücksichtigung der Konkurrenz der Antigene

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Martha Luginbühl
von Basel

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Jena
Gustav Fischer
1922

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt
auf Antrag von Professor R. Doerr.

Abdruck aus der
Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie.
I. Teil. Originale. Bd. XXXIV.
Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Ueberreicht vom Verfasser.

Abdruck aus der

Zeitschrift für Immunitätsforschung. Orig. Bd. 34. 1922. Heft 3

herausgegeben von

E. Friedberger (Greifswald) **R. Kraus** (Sao Paolo) **H. Sachs** (Heidelberg) **P. Uhlenhuth** (Marburg a. L.)

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel (Vorstand: Prof. R. Doerr).]

Analyse des Präzipitationsphänomens mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion unter Berücksichtigung der Konkurrenz der Antigene.

Von **Martha Luginbühl.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. Februar 1922.)

Vermengt man die Lösung eines spezifischen Eiweißantigens mit dem korrespondierenden präzipitierenden Immunserum, so bildet sich bei Einhaltung bestimmter Bedingungen (absolute und relative Konzentration der Reaktionskomponenten, Elektrolytgehalt und Wasserstoffionenkonzentration des Reaktionsgemisches) ein flockiger, mit ausgesprochener Sedimentierungstendenz behafteter Niederschlag. Wir dürfen diesen Niederschlag (das Präzipitat) als das Reaktionsprodukt oder doch wenigstens als eines der Reaktionsprodukte betrachten, welche infolge der wechselseitigen Einwirkung von Präzipitinogen und Präzipitin in vitro entstehen, und können uns leicht überzeugen, daß er eine ganze Reihe von Eigenschaften besitzt, welche als wichtige versuchstechnische Vorzüge zu verwerten sind, wenn man beabsichtigt, auf experimentellem Wege in das Wesen des Reaktionsgeschehens einzudringen. Das Präzipitat läßt sich leicht und vollständig aus dem Reaktionsvolumen abscheiden, und nach erfolgter Trocknung wägen, man kann es dank seiner Irreversibilität in physiologischer Kochsalzlösung waschen und weitgehend von anhaftenden Spuren des Reaktionsgemisches befreien, es läßt sich sowohl in Emulsionsform bringen als auch relativ schonend durch schwache Konzentrationen von NaOH oder durch stärkere Lösungen der Salze seltener Erden (Doerr, Doerr und Berger) lösen; die klaren Lösungen vermag man dann wieder optisch (refraktometrisch oder interferometrisch) auszumessen und kann die gefundenen Werte zum optischen Defizit des Reaktionsgemisches (der überstehenden Flüssigkeiten) in Beziehung setzen (P. Hirsch, Langenstraß, Doerr, Doerr und Berger). Von diesen Möglichkeiten, die sich dem Experimentator zum Teile auto-

matisch anboten, hat man schon frühzeitig und unter Erzielung bedeutsamer Ergebnisse Gebrauch gemacht; es mag genügen, an dieser Stelle auf die Arbeiten von P. Th. Müller, von Dungern, E. P. Pick, Linossier und Lemoine, Leblanc, Camus, Moll, Wels und Chapman, Calmette und Massol, Lampl und Landsteiner, P. Hirsch, Doerr und anderen hinzuweisen.

Nur bei der Prüfung ihres immunologischen Verhaltens bereiteten die Präzipitate zunächst Schwierigkeiten. Ihr Gelzustand macht die Vornahme von Präzipitinreaktionen a limine unmöglich, und die mit ihnen aus Natronlauge oder Thorsulfat dargestellten Sole eignen sich hierzu ebensowenig, da die Anwesenheit des Dispersionsmittels die Niederschlagsbildung verhindert, und da die Elimination derselben (z. B. durch Dialyse oder Neutralisation) zum Status quo führt, d. h. das ursprüngliche Präzipitatgel mit allen seinen Eigenschaften unverändert ausflockt (Coca und Kosakai). Angesichts dieser Sachlage beschränkte man sich auf die immunologische Analyse des vom Präzipitat durch Zentrifugieren befreiten, flüssig gebliebenen Anteils der Reaktionsgemische oder — wie man sich gewöhnlich ausdrückt — der „überstehenden Flüssigkeiten". Linossier und Lemoine stellten hierbei bekanntlich fest, daß sich zuweilen in den überstehenden Flüssigkeiten Spuren beider Reaktionskomponenten frei erhalten, indem sich neue Niederschläge bilden, wenn man von neuem Antigen oder auch präzipitierendes Immunserum hinzufügt. Dieses Phänomen wurde in sehr verschiedener Weise gedeutet. Manche Autoren vertraten die Ansicht, daß die Reaktion zwischen Präzipitinogen und Präzipitin unvollständig verlaufe, so daß eben Reste beider Komponenten unverbunden nebeneinander bestehen bleiben, wie das nach dem Massenwirkungsgesetz bei chemischen Reaktionen zwischen Substanzen mit schwachen gegenseitigen Affinitäten stets der Fall ist; andere suchten dagegen die Ursache in der komplexen Struktur der verwendeten antigenen Substrate und der mit solchen Substraten gewonnenen Immunsera. Dieser letzteren Gruppe schloß sich auch in neuerer Zeit R. Weil an; er wollte sich überzeugt haben, daß das Phänomen von Linossier und Lemoine nur unter der Voraussetzung zu beobachten sei, daß man als „Antigen"

artfremdes Serum benützt, welches de facto ein Gemenge mehrerer durch ihre Sonderspezifitäten unterscheidbarer Eiweißkörper (Euglobulin, Pseudoglobulin, Albumin) darstellt, denen ebenso viele differente Präzipitine entsprechen. Es ist klar und bedarf wohl keiner besonderen Erörterung, daß und wie unter solchen Verhältnissen die von Linossier und Lemoine beschriebene Erscheinung zustande kommen kann. Die Entscheidung über die Richtigkeit dieser Erklärung oder — präziser formuliert — darüber, ob sie auf alle derartigen Fälle paßt, kann jedoch offenbar erst gefällt werden, wenn die koexistierenden, unverbunden bleibenden, d. h. noch reaktionsfähigen Reste von Präzipitinogen und Präzipitin nicht mehr nachweisbar sind, sobald man das Experiment mit reinen, einheitlichen Eiweißantigenen ausführt. R. Weil glaubte in den letzten vor seinem Tode erschienenen Mitteilungen diesen Beweis einwandfrei erbracht zu haben; aber eine 1917 veröffentlichte Arbeit von Bayne-Jones lehrt, daß das Phänomen von Linossier und Lemoine doch auch zu konstatieren ist, wenn man zur Immunpräzipitation reines Edestin oder kristallisiertes Ovalbumin verwendet, eine Angabe, die Doerr und Berger auf Grund eigener, nicht publizierter Untersuchungen mit reinem Edestin bestätigen konnten. Immerhin scheint die Angelegenheit weiterer experimenteller Studien bedürftig, um die mit Rücksicht auf die sehr bestimmt lautenden gegenteiligen Aussagen von R. Weil erforderliche Sicherheit des Urteils zu erreichen.

Wie immer sich aber die definitiven Resultate gestalten werden, sie dürften kaum imstande sein, uns über den Punkt, der den Kern aller an die Immunpräzipitation anknüpfenden Fragen bildet, aufzuklären, über das Verhältnis, in dem Präzipitinogen und Präzipitin im Niederschlag zueinander stehen, nicht nur in quantitativer Hinsicht, sondern mit Rücksicht auf die reziproke qualitative Beeinflussung. Der Quantität nach kann ja seit Moll kein Zweifel existieren, daß die Hauptmasse des Präzipitates dem Immunserum entstammt; aber ob und inwieweit sich das Antigen beteiligt, bleibt ungewiß und wird auch durch die Versuche v. Dungerns mit dem Cuhaltigen Hämocyanin des Oktopusplasmas keineswegs eindeutig beantwortet, und ebensowenig ergeben sich Anhalts-

punkte über das Bestehen und die Natur qualitativer Modifikationen, welche Antigen- und Antikörpereiweiß durch ihr Eingehen in den Niederschlag erleiden. Daß die Veränderungen nicht sehr tiefgreifend sein dürften, konnte man allerdings aus den Beobachtungen schließen, welche P. Th. Müller bei der Präzipitation von Milch durch Laktoserum angestellt hatte; aus dem Laktopräzipitat ließen sich durch bestimmte Prozeduren (Behandlung mit verdünnten Säuren oder Alkalien, Kochen in physiologischer Kochsalzlösung) sowohl das Antigen (Kasein) als der Antikörper (das Laktopräzipitin) in anscheinend unverändertem, aktionsfähigem Zustande abdissoziieren. Aber die Laktopräzipitation darf nicht als Typus der Immunpräzipitationen gelten, da der Niederschlag fast ganz aus dem Antigen, aus Kasein, aufgebaut ist, so daß sich hier die quantitativen Verhältnisse, wie sie Moll ermitteln konnte, in das Gegenteil verkehren.

Daß Antikörper in wirksamer Form aus dem unwirksamen Antigen-Antikörperkomplex freigemacht werden können, lehrt mit Sicherheit z. B. die Abdissoziierung von Normalbakteriolysinen durch Landsteiner und Jagic und die Abdissoziierung von Immunbakteriolysinen durch Munter, sowie die mit neuer und anscheinend besonders vorteilhafter Methodik ausgeführte Dissoziierung von Hämagglutinin durch Furuhata. Doch enthält die Tatsache der Dissoziierbarkeit natürlich keine bestimmtere Direktive über die Art der Verbindung der Komponenten im nicht dissoziierten Reaktionsprodukt.

Es war daher ein methodologischer Fortschritt, als es Doerr und Moldovan 1910 unternahmen, die anaphylaktischen Funktionen der Eiweißantigene zur Analyse der Immunpräzipitation heranzuziehen; dadurch wurde der Nachweis der spezifischen Antigene von den Bedingungen der Immunpräzipitation unabhängig, und bei der Feinheit anaphylaktischer Reaktionen selbst dann noch ermöglicht, wenn die absoluten Mengen resp. die Konzentration auf ein relativ niedriges Niveau absanken. Außerdem gestattet der anaphylaktische Reihenversuch mit abgestuften Dosen exaktere quantitative Bestimmungen als die Präzipitation im Reagenzglase, bei welcher die Festsetzung der Grenze des positiven Reaktionsausfalles stets bis zu einem gewissen Grade willkürlich bleibt.

Doerr und Moldovan gingen in folgender Weise vor. Sie versetzten fallende Konzentrationen von Rinderserum mit Antirinderserum vom Kaninchen, ließen die Präzipitation ablaufen (6 Stunden bei 37° C) und brachten dann die Reaktionsgemische auf die Zentrifuge; die überstehenden Flüssigkeiten wurden abpipettiert, die Präzipitate in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und in der gleichen Flüssigkeit suspendiert, die ersten und zweiten Waschwässer aufgehoben und mit jedem der beiden Anteile des Reaktionsgemisches sowie mit den beiden Waschwässern Meerschweinchen subkutan vorbehandelt. Nach 18 resp. 19 Tagen wurden die sensibilisierten Tiere durch intravenöse Reinjektion auf ihre Ueberempfindlichkeit geprüft und zwar 1) gegen Rinderserum; 2) gegen Kaninchenserum. Es zeigte sich, daß alle Meerschweinchen gegen Kaninchenei weiß anaphylaktisch waren, mit alleiniger Ausnahme der Exemplare, welche die zweiten Waschwässer erhalten hatten; das spezifische Eiweiß des Immunserums, an welches das Präzipitin gekettet ist, wurde also anscheinend durch die Präzipitation nicht alteriert. Da auch die Präzipitate sensibilisierendes Kaninchenei weiß in bedeutenden Mengen enthielten, folgerten Doerr und Moldovan erstens, daß hauptsächlich das Immunserum mit seinen Proteinbeständen in die Niederschlagbildung eingeht (was schon anderweitig gesichert war), zweitens aber, daß die präzipitierende Fähigkeit der Immunsera und die artspezifische Antigenfunktion zwar Eigenschaften derselben Eiweißkörper zu sein scheinen, daß sie aber doch voneinander unabhängig sind. Dieser Schluß ist insofern anfechtbar, als das Experiment nur über das Intaktbleiben des artspezifischen Kaninchenei weißes belehrt, über das Verschwinden des daran haftenden Präzipitins dagegen keine Auskunft erteilt; Doerr und Moldovan waren offenbar der Ansicht, daß dieser Präzipitinverbrauch durch keine besondere Versuchsanordnung gestützt werden muß, da er als selbstverständliche Konsequenz aus ihren sonstigen, weiter unten zu diskutierenden Ergebnissen erfließt. Wenn bei der Flockungsreaktion zwischen Rindereiweiß und Antirinderserum das erstere verschwindet, d. h. wenn seine Antigenfunktion nicht mehr nachzuweisen ist, so muß diesem Vorgang nach den Fundamenten der Immunitätslehre ein Schwund des zu-

gehörigen Antikörpers als notwendiges Korrelat entsprechen. Indes konnte es nur nützlich sein, die hier vorhandene Lücke der experimentellen Tatbestände auszufüllen; das ist in neuerer Zeit auch durch R. Weil sowie durch Coca und Kosakai geschehen, indem sie untersuchten, ob man mit gewaschenen Präzipitaten passiv präparieren kann, um auf diese Art das in den Niederschlägen enthaltene aktionsfähige Präzipitin als sogenannten „anaphylaktischen Antikörper" in Erscheinung treten zu lassen. Weil erzielte neben vereinzelten negativen vorwiegend positive Resultate, aber Coca und Kosakai, die mit spezifischen Niederschlägen aus kristallisiertem Eiereiweiß und zugehörigem Präzipitin vom Kaninchen arbeiteten, hatten trotz mannigfacher Variation der verwendeten Antigenquantitäten fast ausschließlich negative Ergebnisse zu registrieren. Coca und Kosakai bezeichnen daher das Fehlen von freiem anaphylaktischen Antikörper (gleich Präzipitin) im Niederschlag als die Regel und messen diesen negativen Befunden ausschlaggebende Bedeutung zu, speziell mit Rücksicht auf den Umstand, daß eben der Niederschlag vorwiegend aus dem Immunserum herrührt, und daß sie das letztere bei ihren Versuchen in großen Mengen (10—15 sensibilisierende Minimaldosen) anwendeten. Diesen Ausführungen darf man wohl beipflichten; Doerr und Berger konnten die Angaben von Coca und Kosakai insofern bestätigen, als gewaschene, aus großen Mengen kräftig präparierender Antisera erhaltene Immunpräzipitate in einer Anzahl von Fällen keine passive Ueberempfindlichkeit erzeugten, obwohl sie große Massen repräsentierten und in Anbetracht der gewählten quantitativen Verhältnisse vorwiegend aus dem Immunserumeiweiß entstanden sein mußten. So scheint also der erste Teil der Behauptung von Doerr und Moldovan richtig, daß nämlich die spezifischen Präzipitate zwar das Eiweiß des Immunserums in solchem Zustande enthalten, daß es seine ursprüngliche Antigenfunktion zu entfalten vermag, daß aber der an diesem Eiweiß haftende Antikörper (das Präzipitin oder der anaphylaktische Antikörper) schwindet oder doch seine Nachweisbarkeit einbüßt.

Doerr und Moldovan gelangten jedoch mit Hilfe der oben genannten Versuchsanordnung noch zu einer anderen Erkenntnis. Keines der mit überstehenden Flüssigkeiten, mit

gewaschenen Präzipitaten oder auch mit den Waschwässern subkutan vorbehandelten Meerschweinchen war nach 18 Tagen gegen Rinderserum aktiv anaphylaktisch, vorausgesetzt, daß man letzteres in einer der verwendeten Immunserumquantität entsprechenden Menge zum Reaktionsgemisch zugesetzt hatte. Es gelang auf diese Weise, 0,001 bis 0,1 ccm antigenes Rinderserum (Präzipitinogen oder anaphylaktisches Antigen) zum Verschwinden zu bringen oder richtiger seiner Nachweisbarkeit mit Hilfe der Antigenfunktion zu berauben. In dieser Fassung bedeutet die Aussage lediglich eine Umschreibung des Versuchsergebnisses und gibt zu besonderen Bedenken keinen Anlaß. Doerr und Moldovan kommentierten aber die Beobachtung dahin, daß die spezifische Antigenfunktion des Rindereiweißes durch die Verbindung desselben mit dem Antikörper (dem Präzipitin gleich anaphylaktischen Antikörper) ausgelöscht worden sei. Für das Zutreffen dieser Erklärung fehlen einzelne Garantien.

Revidiert man nämlich die Protokolle von Doerr und Moldovan, so stellt sich heraus, daß sie den Meerschweinchen in Form von Präzipitaten oder überstehenden Flüssigkeiten Gemenge injizierten, welche im eingespritzten Volumen 0,1 bis 0,001 ccm Rinderserum neben 0,1 ccm Kaninchenserum enthalten konnten. Die Konzentration resp. die absolute Menge des Kaninchenserums konnte also entweder jener des Rinderserums gleichen oder letztere um das 40- bis 100-fache übertreffen. Im letztgenannten Falle war die „Konkurrenz der Antigene" zu erwarten, die zuerst Benjamin und Witzinger als Gesetz erkannt hatten und die in der Folge von verschiedenen Autoren (R. Weil, Julian Lewis, Coca und Kosakai) bestätigt wurde[1]). Man versteht darunter die Tatsache, daß die sensibilisierende Wirkung kleiner Dosen eines spezifischen Eiweißantigens ausbleibt oder erheblich abgeschwächt wird, wenn man vorher, gleichzeitig oder kurze Zeit später große Quantitäten eines anderen Eiweißantigens einverleibt. Hinsichtlich der möglichen Erklärungsversuche kann auf das kürzlich erschienene Sammelreferat über Anaphylaxie

1) Schon vor Benjamin und Witzinger haben verschiedene Autoren (u. a. auch Friedberger) eine ähnliche gegenseitige Beeinflussung der Antigene bei der Agglutininbildung und bei der Produktion bakteriolytischer Antikörper beschrieben.

(Doerr, Weichardts Ergebnisse, Bd. 5) hingewiesen werden; sie sind für die vorliegenden Betrachtungen irrelevant, und nur die Tatsache an sich verlangt bei der Ausführung von „Analysendes Präzipitationsphänomens mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion" spezielle Berücksichtigung, wenn man über die Ursachen des Verschwindens von Antigen aus dem Reaktionsvolumen ins klare kommen, wenn man eruieren will, ob dieses Verschwinden nicht nur scheinbar und durch die Konkurrenz der Antigene vorgetäuscht ist.

Um dieser Forderung Genüge zu leisten, wurden zwei Wege gewählt:

1) Neben dem Hauptversuch wurde ein Kontrollversuch angesetzt, in vollständig gleicher Anordnung, nur mit der Ausnahme, daß das Antigen nicht mit Immunserum vom Kaninchen, sondern mit Normalserum vom gleichen Tiere vermischt wurde. Wie die Durchsicht des wiedergegebenen Protokolles von Versuch I ergibt, wurden also zwei Gemenge angesetzt:

A. 10 ccm Menschenserum (1 : 200) und 8 ccm NaCl und 2 ccm Antimenschenserum vom Kaninchen;

B. 10 ccm Menschenserum (1 : 200) und 8 ccm NaCl und 2 ccm Normalkaninchenserum.

Der Eintritt der Präzipitation bei A wurde abgewartet, und nun wurden zwei Serien von Meerschweinchen mit fallenden Dosen der Gemenge subkutan vorbehandelt. Auf eine Trennung des Gemenges A in Niederschlag, überstehende Flüssigkeit und Waschwasser mußte selbstverständlich verzichtet werden, da sonst der quantitative Vergleich mit B unmöglich geworden wäre; darin lag zweifellos ein Nachteil, da man zugestehen muß, daß es zu einer Absättigung von freiem Antigen des Präzipitates durch unverbunden gebliebenen Antikörper der überstehenden Flüssigkeit im injizierten Meerschweinchen kommen konnte, ein Prozeß, der geeignet gewesen wäre, die Existenz von freiem Niederschlagantigen zu maskieren. Diesen Nachteil suchten wir durch die zweite Methode zu kompensieren.

2) Es wurden nämlich Reaktionsgemische von Präzipitinogen und Präzipitin angesetzt, die Präzipitate abzentrifugiert und gewaschen und der Gehalt an freiem Antigen in den Präzipitaten wie in den überstehenden Flüssigkeiten durch Austitrieren der shockauslösenden Wirkung bei spezifisch

vorbehandelten passiv präparierten Meerschweinchen bestimmt. [illegible] von [illegible] ccm des antigenen Serums (0,001 pro 100 g Körper-[illegible] Empfindlichkeit der Auswertung der Titration der sensibilisierenden Funktion weitgehend angenähert. Die Konkurrenz der Antigene spielte bei der Feststellung von shockauslösendem Antigen keine Rolle, das war nicht nur von vornherein anzunehmen, sondern wurde auch nachträglich durch das Versuchsergebnis sichergestellt [1]. Wir lassen nun zunächst die Protokolle dieser beiden Experimente folgen.

[illegible]

[illegible]

[illegible]

3. Mit einem Gemenge von Menschenserum und Normalserum vom Kaninchen (Kontrollversuch zu A).

Nach [illegible] Tagen wurde die durch obige Präparierung erzielte Ueber[illegible] gegen Menschenserum und am Tage darauf die Ueber[illegible]

A.

Es wurden 7 Meerschweinchen mit folgendem Gemenge präpariert:

[illegible] ccm Menschenserum 1:200 und 2 ccm Antimenschenserum vom Kaninchen Serum [illegible] und 8 ccm NaCl 0,85-proz.

[illegible]	[illegible]			[illegible]		
[illegible]	[illegible] Menschen-Serum	[illegible] Kanin.-Serum	Mensch.-Serum [illegible]	Symptome	Kanin.-Serum [illegible]	[illegible]
ccm	ccm	ccm	ccm		ccm	
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	m. s. S. Dyspnoë Juckreiz Schmerzen	0,4	tot in 3 Min.
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	l. S. Dyspnoë	—	—
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	0,4	tot in 3 Min.
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	f. O.	—	—
[illegible]	[illegible]	[illegible]	—	—	0,1	tot in 3 Min.
[illegible]	[illegible]	[illegible]	—	—	0,4	dgl.
[illegible]	[illegible]	[illegible]	—	—	0,4	„

[1] [illegible]

B.

Es wurden 9 Meerschweinchen mit folgendem Gemenge präpariert: 10 ccm Menschenserum 1:200 und 2 ccm Normalserum vom Kaninchen und 8 ccm NaCl 0,85-proz.

Präparierung			Reinjektionen			
Gemenge	Darin enthalten		Mensch.-Serum am 21. Tag	Symptome	Kanin.-Serum am 22. Tag	Symptome
	Mensch.-Serum	Kanin.-Normal-Serum				
ccm	ccm	ccm	ccm		ccm	
2	0,005	0,2	0,2	tot in 3 Min.	—	—
2	0,005	0,2	0,1	m. s. S., taumelt, überlebt	0,4	tot in 3 Min.
0,2	**0,0005**	0,02	0,4	**tot in 3 Min.**	—	—
0,2	**0,0005**	0,02	0,1	l. S., überlebt	0,4	tot in 3 Min.
0,04	0,0001	0,004	0,4	fast 0	—	—
0,04	0,0001	0,004	0,4	l. S., überlebt	0,4	tot in 3 Min.
0,008	0,00002	0,0008	—	—	0,4	dgl.
0,008	0,00002	0,0008	—	—	0,4	tot in 4 Min.
0,0016	0,000004	0,00016	—	—	0,4	0

Versuch II.

„Verbrauch" von Antigen (Menschenserum) bei der Immunpräzipitation. Bestimmung des Antigens als shockauslösende Substanz und zwar sowohl in der überstehenden Flüssigkeit als auch im Präzipitat.

Es wurden Meerschweinchen mit 0,4 ccm Antimenschenserum vom Kaninchen (Serum G 31) passiv präpariert. Nach 24 Stunden wurde an den passiv präparierten Tieren die Dosis letalis minima für Menschenserum titriert, und damit das Shockauslösungsvermögen der überstehenden Flüssigkeit und des Präzipitates einer Immunpräzipitation verglichen. Die Immunpräzipitation wurde sowohl bei einer Antigenkonzentration von 1:10 wie auch bei einer Antigenkonzentration von 1:100 angesetzt.

A. Reinjektion von Menschenserum.

Gewicht des Tieres	Menschenserum	Serum pro 100 g	Symptome
185 g	0,05 ccm	0,027 ccm	tot in 3 Min.
285 g	0,02 „	0,007 „	„ „ 3 „
170 g	0,01 „	0,0058 „	„ „ 4 „
198 g	0,004 „	0,002 „	„ „ 4 „
190 g	0,002 „	**0,001** „	„ „ 4 „
198 g	0,001 „	0,0005 „	m. s. S., fällt nicht um, überlebt

B. Reinjektion der überstehenden Flüssigkeit und des Präzipitates einer Immunpräzipitation bei Antigenkonzentration 1:20.

Es werden vermengt: 10 ccm Menschenserum 1:10 und 2 ccm Antimenschenserum vom Kaninchen (Serum G 45) und 8 ccm NaCl 0,85-proz. Nach erfolgter Präzipitation wird der Niederschlag abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit abgehebert. Das Präzipitat wird im ursprünglichen Reaktionsvolum, also in 20 ccm NaCl 0,85-proz. aufgeschwemmt.

Reinjektion der überstehenden Flüssigkeit.

Gewicht des Tieres	Injektionsvolum, entsprechend einem Menschenserumvolum von	Menschenserum pro 100 g	Symptome
160 g	0,002 ccm	0,0012 ccm	sehr schwere S., agonal
230 „	0,002 „	0,00087 „	m. s. S. Krämpfe, fällt aber nicht um

Reinjektion der Präzipitataufschwemmung.

	Injektionsvolum		
245 g	3 ccm	.	0
245 „	1 „	.	0

C. Reinjektion a) der überstehenden Flüssigkeit und b) des Präzipitates einer Immunpräzipitation bei Antigenkonzentration 1:200.

Es werden vermengt: 10 ccm Menschenserum 1:100 und 2 ccm Antimenschenserum vom Kaninchen (Serum G 45) und 8 ccm NaCl 0,85-proz Im übrigen wird wie bei B verfahren.

a) Reinjektion der überstehenden Flüssigkeit.

Gewicht des Tieres	Injektionsvolum, entsprechend einem Menschenserumvolum von	Menschenserum pro 100 g	Symptome
210 g	**0,01** ccm	**0,0047** ccm	**tot in 3 Minuten**
218 „	0,008 „	0,0037 „	m. schw. S., fällt nicht um
250 „	0,006 „	0,0024 „	leichte Symptome
205 „	0,004 „	0,002 „	„ „
200 „	0,002 „	0,001 „	0

b) Reinjektion der Präzipitataufschwemmung.

	Injektionsvolum		
220 g	3 ccm	.	fast 0

Aus dem ersten Versuch geht hervor: 1) daß in einem Gemenge von 10 ccm zweihundertfach verdünnten Menschenserums mit 10 ccm fünffach verdünntem Kaninchenantiserum ungefähr $^4/_5$ der erstgenannten Reaktionskomponente, also des Menschenserums verschwinden. Die Präzipitation ging in der Tat mit einem Unwirksamwerden bedeutender Mengen von Antigen (bestimmt als Sensibilisinogen) einher. Das Kontrollexperiment schaltet die Annahme einer Konkurrenz der Antigene als Ursache des Antigenverbrauches aus. 2) daß die sensibilisierende Kraft des Kaninchenimmunserums stärker war als die des Kaninchennormalserums, nämlich 0,00016 ccm gegen 0,0008 ccm. Diese auffallende Erscheinung haben Doerr und Berger an anderer Stelle ausführlich erörtert und in befriedigender Weise gedeutet; sie hat mit dem hier behandelten Gegenstand nichts zu tun.

Der zweite Versuch illustriert den Verbrauch von Antigen (gemessen als shockauslösende Substanz) in der überstehenden Flüssigkeit nach Ablauf einer Immunpräzipitation. Die Größe der Verminderung hängt anscheinend von dem verwendeten Antigenquantum, d. h. von der Antigenkonzentration ab. Rechnet man die im Reaktionsvolum vorhanden gewesene Menge für das Gemisch B aus, so beträgt dieselbe 1000 letale Dosen pro 100 g Meerschweinchen, und für das Gemisch C beträgt sie 100 letale Dosen. Obwohl nun die Präzipitinmenge dieselbe war, blieben nach eingetretener Flockung bei Gemisch B (Konzentration 1 : 20) 833 bis 769 letale Dosen in der überstehenden Flüssigkeit nachweisbar, bei Gemisch C jedoch nur 21 letale Dosen. Der Verlust betrug sonach im ersten Falle 167 bis 231 letale Dosen, im zweiten Falle 79 letale Dosen. Es gehen also sehr verschiedene Antigenmengen in die Präzipitatbildung ein, je nach der Antigenkonzentration, mit welcher die Präzipitation angesetzt wurde. In den Präzipitaten waren diese Mengen, obwohl sie an sich als beträchtlich bezeichnet werden müssen, nicht nachweisbar. Die eingespritzten Präzipitatanteile hätten 60 bzw. 10 tödliche Antigendosen enthalten sollen, hatten aber auf das präparierte Meerschweinchen keine Wirkung.

Zusammenfassung.

Damit erscheinen die Resultate, welche Doerr und Moldovan seinerzeit bei der Analyse des Präzipitationsphänomens mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion erzielten, gestützt. Im Präzipitat sind Präzipitinogen und Präzipitin derart miteinander verbunden, daß sie keine antigene (anaphylaktogene) Wirkung entfalten können. Der Eiweißkörper des Immunserums, der als Träger des Präzipitins fungiert, bleibt dabei völlig intakt.

Literatur.

Bayne-Jones, Journ. of exp. Med., Vol. 25, 1917, p. 837.
Benjamin und Witzinger, Zeitschr. f. Kinderheilk., Bd. 2 u. 3, 1911.
Bordet, Traité de l'Immunité, Paris 1920.
Brack, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, p. 407.
Coca and Kosakai, Studies in anaphylaxis. Journ. of Immunol., Vol. 5, 1920, p. 297.
Doerr, Kolloid-Zeitschr., Bd. 27, 1920, Heft 6.
— und Berger, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 93, Heft 1.
— und Moldovan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, Heft 2 u. 3.
v. Dungern, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 1903.
Fleischmann und Michaelis, Zeitschr. f. exp. Pathol., Bd. 1, 1905.
— — Fortschritte der Medizin, Bd. 22, p. 1257.
Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., 1904, No. 10.
Furuhata, Tanemoto, Japon medical World, Vol. 1, 1921, p. 1.
Hirsch, Immunochem. Studien. Fermentforsch., Bd. 2, 1918, p. 269 u. 290
Lampl und Landsteiner, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 26, 1917.
Langenstraß, Zeitschr. f. Fermentforsch., Bd. 3, 1920, Heft 1.
Leblanc, La Cellule, T. 18, 1901, p. 337.
Lewis, Journ. of infect. Diseases, Vol. 17, 1915, p. 421.
Linossier et Lemoine, Compt. rend. Soc. biol., 1902, Livr. 85.
Michaelis, Handb. der Biochemie, Bd. 2, p. 552.
Moll, Hofm. Beiträge, Bd. 4, 1905.
Müller, P. Th., Münch. med. Wochenschr., Bd. 49, 1902, p. 1330.
Munter, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 94, 1921, p. 152
Pick, E. P., Hofm. Beiträge, Bd. 1.
Weil, R., Journ. of Immunol., Vol. 1, 1916, p. 19.
— und Coca, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., 1913.
Welsh und Chapman, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, Heft 4.